

精噁唑禾草灵降解菌株 *Acinetobacter* sp.T-1 的分离鉴定及降解特性研究

董维亮¹, 侯颖^{1,2}, 陶健¹, 曹慧¹, 崔中利^{1*}

(1.南京农业大学生命科学学院, 农业部农业环境微生物重点开放实验室, 南京 210095; 2.河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003)

摘要:从长期受精噁唑禾草灵污染的土壤中分离筛选得到了精噁唑禾草灵降解菌 T-1, 根据生理生化特性和 16S rRNA 同源性序列分析, 将其鉴定为不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)。菌株 T-1 能够以精噁唑禾草灵为唯一碳源进行生长, 在 5 d 内对 50 mg·L⁻¹ 精噁唑禾草灵的降解率可达 95% 以上。T-1 降解精噁唑禾草灵的最适温度为 37 ℃, 而其在 pH5~11 的范围内对 50 mg·L⁻¹ 精噁唑禾草灵的降解率均可以达到 85% 以上。经 LC-MS 鉴定 *Acinetobacter* sp.T-1 降解精噁唑禾草灵的主要产物为精噁唑禾草灵酸, 表明菌株 T-1 对精噁唑禾草灵的降解是通过断裂其酯键形成精噁唑禾草灵酸和乙醇实现的。

关键词:精噁唑禾草灵; 降解; *Acinetobacter* sp.

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)05-0979-07 doi:10.11654/jaes.2013.05.015

Isolation and Characterization of Fenoxaprop-p-ethyl-Degrading Bacteria Strain *Acinetobacter* sp.T-1 and Its Degrading Characteristics

DONG Wei-liang¹, HOU Ying^{1,2}, TAO Jian¹, CAO Hui¹, CUI Zhong-li^{1*}

(1.Key Lab of Microbiology of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, College of Life Science, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China; 2.College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: Fenoxaprop-p-ethyl (FE) is a postemergence applied aryloxyphenoxy propionate (AOPP) herbicide used for the control of annual and perennial weeds in crops and it caused severely environmental pollution for its widely used in agriculture. Bioremediation is an effective and economic method to treat the environment that has been polluted by FE. So researchers paid much attention in this area. In the present study, a bacterial strain T-1 capable of degrading FE was isolated from the soil which was contaminated by FE for a long time. Strain T-1 was preliminarily identified as *Acinetobacter* sp. based on its physiological and biochemical characters and 16S rRNA gene sequence analysis. Strain T-1 could utilize FE as the sole carbon source for growth, and degrade 95% of 50 mg·L⁻¹ FE within 5 days. The optimal temperature of FE degradation by strain T-1 was 37 ℃, and stain T-1 could degrade over 85% of 50 mg·L⁻¹ FE within pH5~11. Inoculum size and concentration of substrate had a significant effect on the degradation of FE by strain T-1. And the degradation rate could increase with the increasing of the inoculum size, while the increase in the concentration of the substrate would inhibit the degradation of FE. The ion Ni²⁺ could inhibit the strain to degrade FE slightly, and other metal ions had no effect on the degradation of FE by strain T-1 in the experimental range. One major metabolite fenoxaprop acid (FA) was identified by LC-MS during the degradation of FE and this showed that the metabolic pathway of strain T-1 degrading FE was the cleavage of ester bonds to form FA and ethanol.

Keywords: fenoxaprop-p-ethyl; degradation; *Acinetobacter* sp.T-1

收稿日期: 2012-11-01

基金项目: 国家自然科学基金(31270095), 江苏省杰出青年基金(BK2012029), 国家科技支撑计划(2012BAD14B02); 农业部“948”项目

作者简介: 董维亮(1988—), 男, 黑龙江伊春人, 博士研究生, 主要从事环境微生物研究。

* 通信作者: 崔中利 E-mail: czl@njau.edu.cn

精噁唑禾草灵{(R)-[2-[4-(6-氯-1,3-苯并噁唑-2-氧基)苯氧基]丙酸乙酯}是1978年由德国赫斯特公司开发的一种防除禾本科杂草的芳氧苯氧丙酸酯类除草剂,属于内吸传导型选择性芽后除草剂。主要用于麦田防除野燕麦、看麦娘等多种禾本科杂草,也可以防除豆类、甜菜、棉花、亚麻、花生和蔬菜田的一年生和多年生禾本科杂草^[1],具有施药适期长、防效好、对小麦安全等特点,目前在国内外使用很广。精噁唑禾草灵主要是通过抑制脂肪酸的合成来起到除草的作用,但与此同时也对一些非靶动植物造成了一定的毒害。如有研究表明,精噁唑禾草灵对水体中的鱼类和蝌蚪都具有一定的毒性^[2-3];如果使用不当,亦会严重影响大豆的固氮能力^[4]。

生物降解是农药在环境中的一类重要转化过程,微生物由于大量存在于自然界并具有种类繁多、繁殖迅速和对环境适应性强等特点,在农药的生物降解过程中起到了重要作用。尽管精噁唑禾草灵可以通过物理或化学过程进行降解,但微生物代谢仍然是其在土壤中降解的主要方式^[5-8]。目前国内外关于精噁唑禾草灵等芳氧苯氧丙酸酯类除草剂的微生物降解研究正逐渐受到重视,能降解该类除草剂的微生物分布于多个菌属,如 *Chryseomonas* sp.^[9-10]、*Sphingomonas* sp.^[9-10]、*Pseudomonas* sp.^[11-12]、*Alcaligenes* sp.^[13]、*Rhodococcus* sp.^[14]等;经鉴定精噁唑禾草灵酸、6-氯-2,3-二氢苯并噁唑-2-酮、2-(4-羟基苯氧基)丙酸等为精噁唑禾草灵微生物降解的主要产物^[11-16]。本文从长期受精噁唑禾草灵污染的土壤中分离筛选到1株能够高效降解精噁唑禾草灵的菌株T-1,经鉴定为不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.),这是首次从该属中分离到精噁唑禾草灵降解菌。本文亦对菌株T-1降解精噁唑禾草灵的特性和机制进行了研究,以期利用该菌株进行精噁唑禾草灵污染土壤的微生物修复提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试土样

用于精噁唑禾草灵降解菌富集分离的土样采自江苏省镇江市某农药厂。

1.2 培养基、试剂与主要仪器

基础盐培养基($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$):NaCl 1.0, K_2HPO_4 1.5, KH_2PO_4 0.5, NH_4NO_3 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 去离子水 1000 mL, pH 7.0。

LB培养基($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$):NaCl 10.0, 酵母膏 5.0, 蛋白胨 10.0, pH 7.0。固体培养基加入2%的琼脂。

主要试剂:二氯甲烷(分析纯)、无水硫酸钠、甲醇(色谱纯)。

供试原药:精噁唑禾草灵原药(>95.5%),由江苏省农科院李永丰研究员提供。

主要仪器:SHIMADZU UV-2401 紫外可见分光光度计、SHIMADZU LC-20AD 高效液相色谱仪(UV)、Agilent LC-MSD 1100 instrument 液-质联用仪。

1.3 精噁唑禾草灵降解菌的富集与分离

取长期受精噁唑禾草灵污染的土样 5.0 g, 置于 100 mL 含 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 精噁唑禾草灵的基础盐培养基中,在 30°C 、 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养。每周移种 1 次,以 10% 的接种量接入新鲜的相同培养基中,并逐渐提高精噁唑禾草灵的浓度至 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,用液相色谱测定培养液中精噁唑禾草灵的含量,将具有降解能力的培养液进行梯度稀释,涂布于含 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 精噁唑禾草灵的固体基础盐培养基上, 30°C 培养,待平板上出现单菌落后,挑取单菌落分别转接至含 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 精噁唑禾草灵基础盐培养基中,验证菌株对精噁唑禾草灵的降解效果。

1.4 降解菌株的鉴定

将分离到的精噁唑禾草灵降解菌株参照《常见细菌系统鉴定手册》^[17]和《Bergey's manual of determinative bacteriology》(第九版)^[18]进行部分生理生化鉴定和 16S rRNA 基因序列分析。

16S rRNA 基因序列分析:采用 SDS 高盐法提取菌株 T-1 的总 DNA,进行 16S rRNA 基因的扩增,正向引物为 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',反向引物为 5'-TACCTTGTTACGACTT-3'。50 μL 扩增反应体系如下:DNA 模板 100 ng, dNTP ($2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 4 μL , 引物 ($25 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 各 1 μL , 10 $\times$ Taq 聚合酶反应缓冲液 5 μL , Mg^{2+} ($2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 μL , Taq 酶 0.5 μL , 加灭菌双蒸水至 50 μL 。反应条件: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 52°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 循环 30 次; 72°C 延伸 10 min; 10°C 保温。采用 PCR 回收试剂盒回收 16S rRNA 的基因片段,琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物的大小(1.5 kb 左右),T/A 克隆后进行测序^[19],由上海英骏生物技术公司完成。测序结果通过在线分析(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),与 Gen-Bank 中的 16S rRNA 基因序列进行相似性比较,构建系统进化树^[20]。

1.5 培养液中精噁唑禾草灵含量的测定

采用高效液相色谱法(HPLC)测定培养液中精噁唑禾草灵含量。取 5 mL 培养液,加入少量 20% 盐酸,

调节 pH 至 2~3,用等体积的二氯甲烷剧烈振荡抽提,静置分层后,弃水相,加入一定量的无水硫酸钠,去除残余水分。吸取 1 mL 的二氯甲烷萃取液,吹干,加入 1 mL 色谱纯甲醇溶解定容,用孔径 0.22 μm 的有机相滤膜过滤后,用高效液相色谱法测定样液中精噁唑禾草灵的含量。液相色谱条件:250 mm $\times$ 4.6 mm C18 反相色谱柱;流动相为 100% 甲醇;流速为 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$;Waters 2487 紫外检测器,检测波长为 240 nm;进样量 20 μL 。

1.6 菌株 T-1 种子液的制备与精噁唑禾草灵降解特性研究

挑取菌株 T-1 的单菌落接种于 3 mL 液体 LB 培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 h;然后转接至 20 mL 新鲜的 LB 培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h,6000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 10 min 收集菌体;经灭菌的基础盐培养基洗涤后,制成 $\text{OD}_{600\text{nm}}=2.0$ 的菌液,即为种子液。

将菌株 T-1 的种子液接种于含有精噁唑禾草灵的基础盐培养基中,分别研究温度、pH、接种量、底物浓度以及金属离子对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响。

1.7 菌株 T-1 生长量的测定

因精噁唑禾草灵在无机盐液体培养基中的溶解度很小,会形成白色漂浮物,干扰菌株 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 值的测定,因此本研究采用平板菌落计数法测定精噁唑禾草灵降解过程中培养液中活菌的数量。

1.8 菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵代谢产物的鉴定及代谢途径分析

将菌株 T-1 的种子液按 10% 接种量接种于含 50 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 精噁唑禾草灵的无机盐培养基中,30 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r $\cdot$ min $^{-1}$ 培养,定时取样,样品经处理后,利用 HPLC-MS 鉴定精噁唑禾草灵降解的中间产物,并分析菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的机制。

液相分离采用 250 mm $\times$ 4.6 mm C18 反相色谱柱;流动相为 80% 甲醇;流速为 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$;柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;Waters 2487 紫外检测器,检测波长为 239 nm;进样量 2 μL 。质谱检测器为 ESI 离子源,m/z 扫描范围为 100~700,离子源喷射电压 4.5 kV,毛细管温度 250 $^{\circ}\text{C}$,夹套气(N_2)流量 1.5 L $\cdot$ min $^{-1}$,辅助气 N_2 流速 10 L $\cdot$ min $^{-1}$,样品采用负离子模式检测。

2 结果与分析

2.1 精噁唑禾草灵降解菌的富集与分离

利用以精噁唑禾草灵为唯一碳源的无机盐培养

基对精噁唑禾草灵降解菌进行了连续富集,获得了能够在 7 d 内将 100 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 精噁唑禾草灵完全降解的富集液。通过分离纯化,得到一株能够高效降解精噁唑禾草灵的菌株,命名为 T-1。该菌株在 5 d 内可将 50 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 精噁唑禾草灵降解 80% 以上(图 1)。

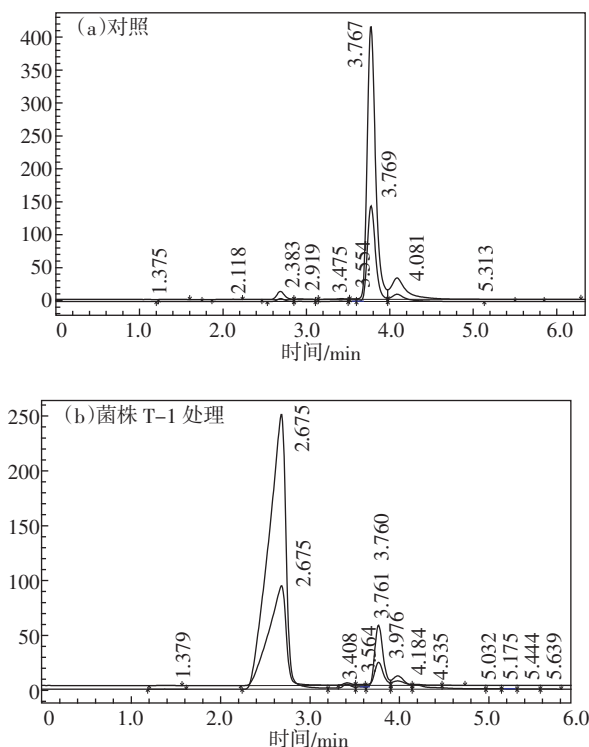


图 1 菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的 HPLC 分析

Figure 1 Degradation of fenoxaprop-p-ethyl analysed with HPLC by strain T-1 (a:CK;b:Treatment by strain T-1)

2.2 菌株 T-1 的初步鉴定

菌株 T-1 在固体 LB 培养基上形成的菌落呈淡黄色,圆形、光滑、边缘整齐、凸起。菌株 T-1 生理生化特性如表 1 所示。

利用细菌 16S rRNA 基因通用引物对菌株 T-1 的 16S rDNA 序列进行了 PCR 扩增并测序。将测序结果(GenBank accession number HQ438579)用 NCBI 网站中 BLAST 软件与 GenBank 中的 16S rDNA 序列进行同源性比较,发现其与不动杆菌属细菌的相似性最高。将菌株 T-1 的 16S rDNA 序列与不动杆菌属的模式菌株的 16S rDNA 序列进行聚类分析(图 2),结合菌株 T-1 的生理生化特性,初步鉴定菌株 T-1 属于不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)。

2.3 菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的特性研究

2.3.1 利用精噁唑禾草灵为唯一碳源的生长和降解

表 1 菌株 T-1 的生理生化特性

Table 1 Physiological characteristics of strain T-1			
实验项目	结果	实验项目	结果
革兰氏染色	-	淀粉水解	-
氧气	好氧	明胶水解	+
氧化酶	-	葡萄糖产酸	+
接触酶	+	葡萄糖产气	-
V.P 试验	+	乳糖产酸	+
M.R 试验	-	果糖产酸	+
硝酸盐还原	-	阿拉伯糖产酸	+
柠檬酸盐利用	+	蔗糖产酸	-
运动性	-	脲酶	-

注：“+”表示阳性；“-”表示阴性。

菌株 T-1 以 50 mg·L⁻¹ 的精噁唑禾草灵为唯一碳源,每 24 h 取样 1 次,检测该菌株的生长和降解精噁唑禾草灵的情况,设接种灭活的 T-1 为对照。结果如图 3 所示,随着精噁唑禾草灵的降解,菌株 T-1 的数量逐渐增加,表明菌株 T-1 能以精噁唑禾草灵为唯一碳源生长。

2.3.2 温度对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

在基础盐培养基中添加终浓度为 50 mg·L⁻¹ 的精

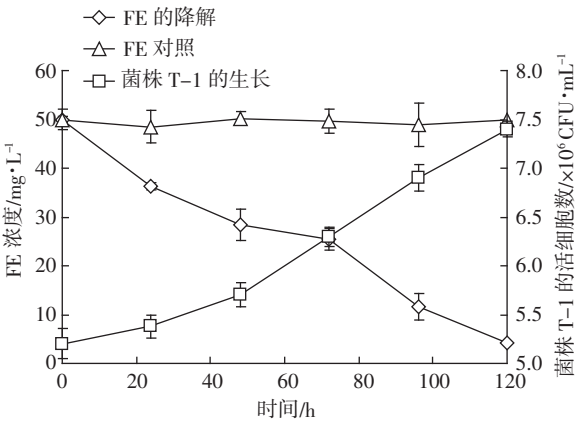


图 3 菌株 T-1 以精噁唑禾草灵为唯一碳源的生长情况

Figure 3 Utilization of FE as sole source of carbon for growth by strain T-1

噁唑禾草灵,以 10% 的接种量接入种子液,于不同温度下(20、25、30、37、42 ℃),180 r·min⁻¹ 培养。120 h 后取样,样品经处理后,通过 HPLC 检测精噁唑禾草灵降解情况,结果如图 4 所示。温度对菌株 T-1 的降解效率有一定的影响,在 20 ℃时,降解率只有 50%左右;随着温度的提高,精噁唑禾草灵的降解率也逐渐提高,到 37 ℃时降解率达到最大,为 95.6%;而当温度为 42 ℃,降解率略有降低。表明低温对 FE 的降解有

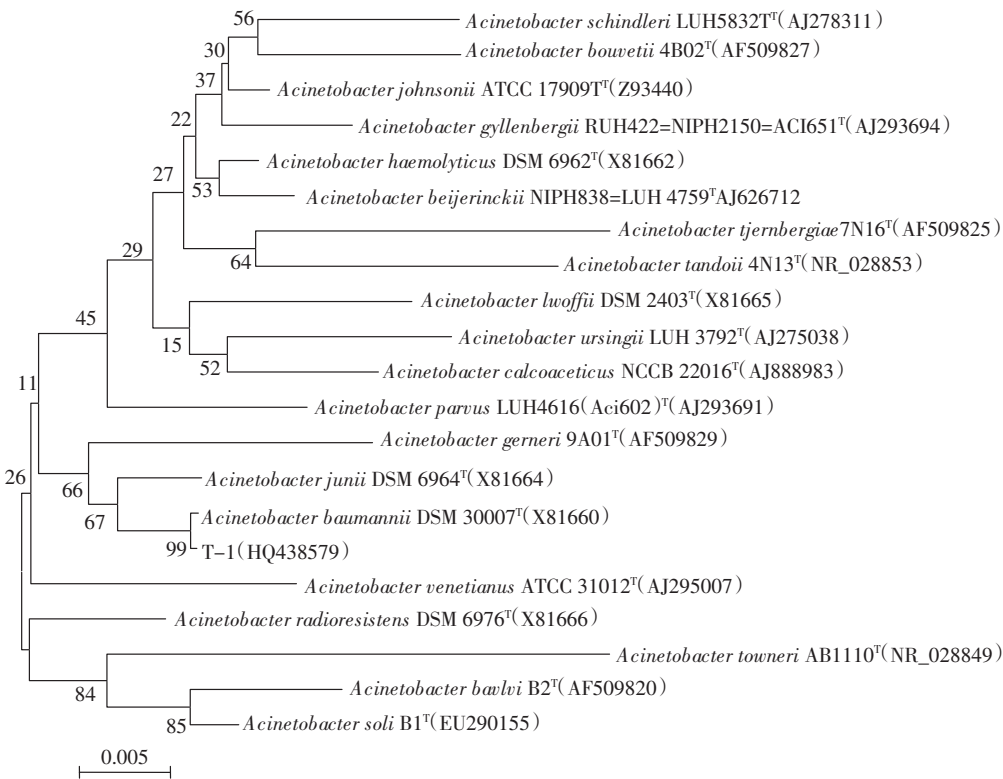


图 2 菌株 T-1 基于 16S rDNA 序列同源性分析的系统发育树

Figure 2 The phylogenetic tree of strain T-1 based on Homology analysis of 16S rDNA sequence

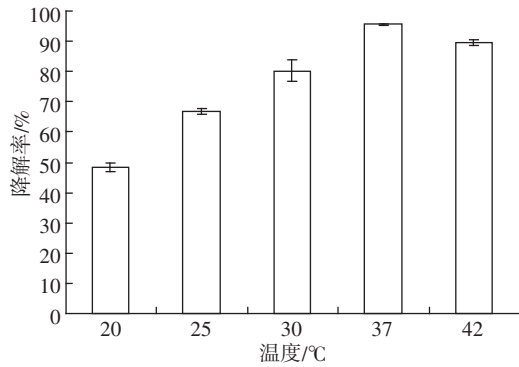


图4 温度对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

Figure 4 Effect of temperature on fenoxaprop-p-ethyl degradation by strain T-1

明显的抑制作用, 菌株 T-1 对其降解最适温度为 37 °C。

2.3.3 pH 对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

将菌株 T-1 以 10% 的接种量分别接种于含 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 精噁唑禾草灵, pH 分别为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 的基础盐培养基中, 30 °C、180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养 120 h 后取样测定精噁唑禾草灵的降解效果, 结果如图 5 所示。精噁唑禾草灵在 pH 5.0~11.0 之间均具有良好的降解效果, 降解率均达到 85% 以上, 当 pH 值为 8.0 时降解率达到最大为 95.0%。此外, 精噁唑禾草灵在酸性和碱性条件下亦具有一定的自然水解率, 但均较低。

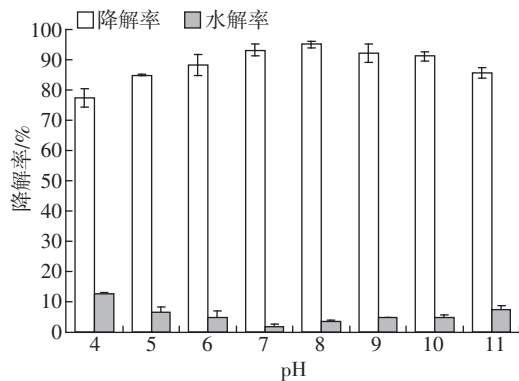


图5 pH 对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

Figure 5 Effect of pH on degradation of fenoxaprop-p-ethyl by strain T-1

2.3.4 接种量对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

在基础盐培养基中加入 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精噁唑禾草灵, 分别以 5%、10%、15%、20% 的接种量接入菌株 T-1 的种子液, 于 30 °C、180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养, 每隔 24 h 取样检测残留精噁唑禾草灵含量, 结果见图 6。可以

看出, 当以 5% 的接种量接种菌株 T-1, 培养 120 h 后, 精噁唑禾草灵的降解率只有 60%; 而当接种量为 10%~20% 时, 精噁唑禾草灵在 120 h 内降解效率达到 85% 以上。所以, 接种量的高低与农药的降解效率有直接的关系, 接种量越大, 精噁唑禾草灵的降解效率越高。

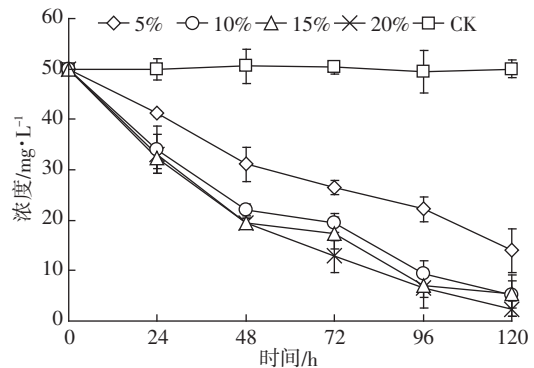


图6 接种量对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

Figure 6 Effect of inoculum volume on degradation of fenoxaprop-p-ethyl by strain T-1

2.3.5 精噁唑禾草灵初始浓度对菌株 T-1 降解能力的影响

在基础盐培养基中加入终浓度分别为 25、50、75、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精噁唑禾草灵, 以 10% 的接种量接入菌株 T-1 种子液, 于 30 °C、180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养, 每隔 24 h 取样检测, 结果见图 7。可以看出, 菌株 T-1 对较低浓度 ($\leq 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的精噁唑禾草灵有较好的降解效果, 在浓度为 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时菌株 T-1 的降解率达到 91.6%, 而国内报道的产碱菌属 H^{19} 在相同时间的降解率只有 65.96%。当精噁唑禾草灵浓度超过 75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌株 T-1 的降解率显著下降, 这可能是由

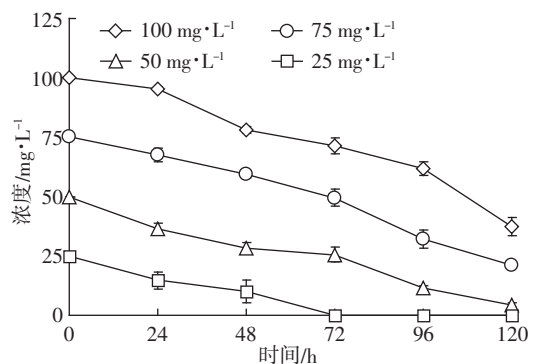


图7 精噁唑禾草灵初始浓度对菌株 T-1 降解能力的影响

Figure 7 Effect of initial concentration on degradation of fenoxaprop-p-ethyl by strain T-1

于过高浓度的精噁唑禾草灵对菌株 T-1 产生毒害作用而抑制其生长。

2.3.6 金属离子对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

在含 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精噁唑禾草灵的基础盐培养基中,添加 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的各种金属离子(Cr^{3+} 、 Ni^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+}),按 10% 接种量接种 T-1 种子液,并设置阴性对照(不添加金属离子,接菌),于 30°C 、 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养,培养 120 h 后检测精噁唑禾草灵的降解率,每个处理重复 3 次,结果如图 8 所示。与接种菌株 T-1 而不添加任何金属离子的阴性对照相比, Ni^{2+} 对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵有一定的抑制,在实验范围内,其他的几种金属离子没有表现出对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的促进或抑制作用。

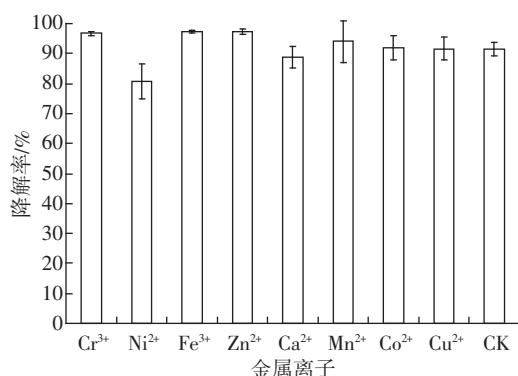


图 8 添加金属离子对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的影响

Figure 8 Effect of metal ions on degradation of fenoxaprop-p-ethyl by strain T-1

2.4 菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵代谢途径的研究

在对菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的培养液进行 HPLC 分析时,发现提取物中出现了新的产物峰,且该物质的量随着精噁唑禾草灵的减少而增加。将该产物进行 LC-MS 分析,其质谱图见图 9。可以看出,该物质的 $m/z=332.0$,这与母体精噁唑禾草灵经水解产生的(R)-2-[4-(6-氯-1,3-苯并噁唑-2-基氧)苯氧基]丙酸的相对分子量 333.0 相吻合。根据精噁唑禾草灵及代谢产物的结构分析,推测菌株 T-1 对精噁唑禾草灵的降解主要是通过水解 (R)-2-[4-(6-氯-1,3-苯并噁唑-2-基氧)苯氧基]丙酸乙酯的酯键产生 (R)-2-[4-(6-氯-1,3-苯并噁唑-2-基氧)苯氧基]丙酸和乙醇实现的,如图 10 所示。

3 小结

从受精噁唑禾草灵污染的土壤中分离筛选到一株高效降解精噁唑禾草灵的菌株 T-1,经生理生化和

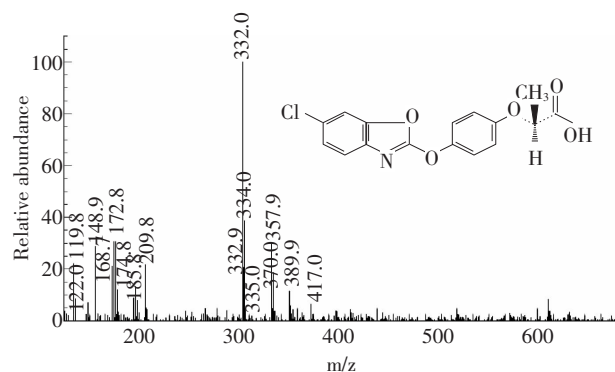


图 9 培养液中产物的 LC-MS 质谱图及其推测结构

Figure 9 Mass spectrum and possible structure of the metabolite produced in the culture

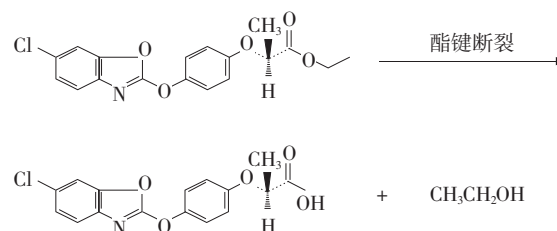


图 10 菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的代谢途径

Figure 10 The metabolic pathway of degradation of fenoxaprop-p-ethyl by strain T-1

16S rDNA 序列分析鉴定为不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.),这是首次从不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)中筛选分离到降解精噁唑禾草灵的菌株,本研究对于进一步研究精噁唑禾草灵的降解提供了一条有效的途径。

菌株 T-1 可以在 5 d 内降解 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 精噁唑禾草灵的最高降解效率为 95%。菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的最适温度为 37°C ,起始浓度越高,所需的降解时间越长;接种量越高,降解速度越快;在实验范围内,各种金属离子对降解没有明显的影响。通过 HPLC-MS 技术鉴定菌株 T-1 降解精噁唑禾草灵的主要产物为精噁唑禾草灵酸,据此推测菌株 T-1 对精噁唑禾草灵的降解主要是通过水解 (R)-2-[4-(6-氯-1,3-苯并噁唑-2-基氧)苯氧基]丙酸乙酯的酯键产生 (R)-2-[4-(6-氯-1,3-苯并噁唑-2-基氧)苯氧基]丙酸和乙醇实现的。

参考文献:

- [1] Bieringer H, Hoerlein G, Langelüdke P, et al. HOE 33171-A new selective herbicide for control of annual and perennial warm climate grass weeds in broadleaf crops[J]. *Proc Brighton Crop Prot Conf-Weeds*, 1982, 1:11-17.
- [2] 陈家长, 杨林, 胡庚东, 等. 除草剂骠马对草鱼遗传毒性的研究[J].

- 农业环境科学学报, 2006, 25(2):295-300.
- CHEN Jia-zhang, YANG Lin, HU Geng-dong, et al. Genetic toxicity of the herbicide puma super to grass carp[J]. *J Agro-Environ Sci*, 2006, 25(2):295-300.
- [3] 黄帆, 郭正元, 徐珍, 等. 氰氟草酯和精噁唑禾草灵对蝌蚪的毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3):1063-1066.
- HUANG Fan, GUO Zheng-yuan, XU Zhen, et al. Toxicity of cyhalofop-butyl and fenoxaprop-ethyl to tadpole[J]. *J Agro-Environ Sci*, 2007, 26(3):1063-1066.
- [4] Ozair C A, Moshier L J. Effect of soil incorporate trifluralin and selected postemergent herbicide on growth nodulation and nitrogen fixation of soybean[J]. *Pak J Agric Res*, 1998, 9(3):316-320.
- [5] Smith A E. Persistence and transformation of the herbicides [^{14}C]-fenoxaprop-ethyl and [^{14}C]-fenthionpropethyl in two prairie soils under laboratory and field conditions[J]. *J Agric Food Chem*, 1985, 33:483-488.
- [6] Toole A P, Crosby D G. Environmental persistence and fate of fenoxaprop-ethyl[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1989, 8:1171-1176.
- [7] Smith A E, Aubin A J. Degradation studies with ^{14}C fenoxaprop in prairie soils[J]. *Can J Soil Sci*, 1990, 70:343-350.
- [8] Lin J, Chen J, Wang Y, et al. More toxic and photoresistant products from photodegradation of fenoxaprop-p-ethyl[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56:8226-8230.
- [9] Smith-Grenier L L, Adkins A. Isolation and characterization of soil microorganisms capable of utilizing herbicide diclofop-methyl as a sole source of carbon and energy[J]. *Can J Microbiol*, 1996, 42:221-226.
- [10] Smith-Grenier L L, Adkins A. Degradation of diclofop-methyl by pure cultures of bacteria isolated from Manitoban soils[J]. *Can J Microbiol*, 1996, 42:227-233.
- [11] Hoagland R E, Zablotowicz R M. Biotransformations of fenoxaprop-ethyl by fluorescent pseudomonas strains[J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46(11):4759-4766.
- [12] Nie Z J, Hang B J, Cai S, et al. Degradation of cyhalofop-butyl (CyB) by *Pseudomonas azotoformans* strain QDZ-1, and cloning of a novel gene encoding CyB-hydrolyzing esterase[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59:6040-6046.
- [13] Song L Y, Hua R M, Zhao Y C. Biodegradation of fenoxaprop-p-ethyl by bacteria isolated from sludge[J]. *J Hazard Mater*, 2005, 118:247-251.
- [14] Hou Y, Tao J, Shen W J, et al. Isolation of the fenoxaprop-ethyl (FE)-degrading bacterium *Rhodococcus* sp. T1, and cloning of FE hydrolase gene *feh*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2011, 323(2):196-203.
- [15] Gennari M, Vincenti M, Nègre M, et al. Microbial metabolism of fenoxaprop-ethyl[J]. *Pestic Sci*, 1995, 44:299-303.
- [16] 宋立岩, 花日茂, 赵由才. 精噁唑禾草灵微生物降解的初步研究[J]. 环境化学, 2005, 24(2):193-196.
- SONG Li-yan, HUA Ri-mao, ZHAO You-cai. Preliminary study on the biodegradation of fenoxaprop-p-ethyl[J]. *Environ Chem*, 2005, 24(2):193-196.
- [17] 东秀珠, 蔡妙英, 等. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- DONG Xiu-zhu, CAI Miao-ying, et al. The common bacterial system identification manual[M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [18] Edwards U, Rogall T B, Emde H, et al. Isolation and direct complete determination of entire genes[J]. *Nucleic Acids Res*, 1989, 17:7843-7853.
- [19] 奥斯特伯 F M, 布伦特 R, 金斯顿 R E, 等. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- Ausubel F M, Brent R, Kingston R E, et al. Short protocols in molecular biology[M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [20] William D H, Batbara A M. Bacterial diversity in Adiondack mountain lakes as revealed by 16S rRNA gene sequences[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(7):2957-2960.